

欧前胡素在氯仿中溶解度最大,分别考察了氯仿浸泡24 h、氯仿回流提取1 h、氯仿超声提取30 min、氯仿超声提取1 h,结果以氯仿超声提取30 min最完全。

对欧前胡素对照品采用紫外分光光度法测定吸

收波长,分别在300、249、223 nm处有吸收,其中249 nm为最大吸收波长,故选择250 nm作为测定波长。

本测定方法方便、快速、专属性及重线性好,结果准确可靠,可用于该制剂的质量控制。

小儿葫芦散的质量标准研究

苏强¹, 王瑞明¹, 李晋生¹, 李先荣¹, 范永强², 宋守才², 卢建亚²

(1. 山西省中医药研究院, 山西 太原 030012; 2. 山西泰源药业有限公司, 山西 太原 030031)

小儿葫芦散由化橘红、茯苓、鸡内金、天麻、川贝母及冰片等药味组成,用于治疗小儿痰喘咳嗽、脘腹胀满、吐乳不食以及惊风等症。本研究旨在建立其主要药味化橘红、天麻及冰片的薄层鉴别方法,采用HPLC法定量化橘红中柚皮苷,为制剂的质量监控提供依据。

1 仪器与试药

HP1100 高效液相色谱仪,包括 HP G1322A 真空脱气泵、HP G1311A 四元泵、HP G1313A ALS 自动进样器、HP G1315 DAD 二级管阵列检测器、HP Chemstation system 化学工作站;SB 3200 超声波处理器(上海必能信仪器厂),BP211D 电子天平(德国赛多利斯),939 薄层制板器(重庆南岸贝尔德制造技术厂)。

小儿葫芦散由山西泰源药业有限公司提供;柚皮苷(批号:0722-9805,供含量测定用)、天麻素、龙脑对照品均购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 化橘红的鉴别:取本品2 g,加乙醚30 mL,超声处理10 min,取出,滤过,乙醚液备用。药渣挥尽乙醚,加水饱和的正丁醇20 mL,超声处理25 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇适量溶解,加入已处理好的中性氧化铝(100~200目)2 g,拌匀,水浴上挥干甲醇,移入小柱(内径1.5 cm)内,用甲醇洗脱至洗脱液无色,收集洗脱液,挥干。残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取柚皮苷对照品,加甲醇制成0.4 mg/mL溶液,作为对照品溶液。再按处方取不含化橘红的其他药味,照本品工艺及上述供试品制备方法,制成阴性对照溶液。吸取上述3种溶

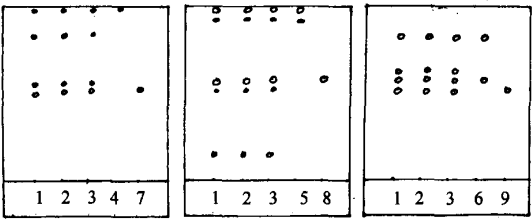
液各10 μ L,分别点于同一含羧甲基纤维素钠的硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-甲酸-水(10:2:3)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铝试液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。见图1-A。

2.2 天麻的鉴别:取2.1项下溶液作为供试品溶液。另取天麻素对照品,加甲醇制成1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。再按处方取不含天麻的其他药味,同法制成阴性对照溶液。吸取上述供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μ L,对照品溶液5 μ L,分别点于同一含羧甲基纤维素钠的硅胶G薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(8:1:3:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%磷钼酸试液,110 $^{\circ}$ C烘烤至显色清晰,日光下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。见图1-B。

2.3 冰片的鉴别:取2.1项下乙醚液,挥干,残渣加醋酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取龙脑对照品,加醋酸乙酯制成1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。再取不含冰片的其他药味,同法制成阴性对照品溶液。吸取上述3种溶液各5 μ L,分别点于同一含羧甲基纤维素钠的硅胶G薄层板上,以苯-醋酸乙酯(19:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%香草醛硫酸溶液,110 $^{\circ}$ C烧烤至显色清晰,日光下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。见图1-C。

3 柚皮苷的测定

3.1 色谱条件:色谱柱:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(250 mm $\times$ 4.6 mm);流动相:甲醇-1%冰



1~3-小儿葫芦散 4-缺化橘红的阴性对照 5-缺天麻的阴性对照 6-缺冰片的阴性对照 7-柚皮苷 8-天麻素 9-龙脑
1—3-Xiao'er Hulu Pulvis 4-negative sample without *Exocarpium Citri Grandis* 5-negative sample without *Rhizoma Gastrodiae* 6-negative sample without *Borneolum Syntheticum* 7-naringin 8-gastrodin 9-borneol

图 1 小儿葫芦散化橘红(A)、天麻(B)和冰片(C)的 TLC 图

Fig. 1 TLC chromatograms of *Exocarpium Citri Grandis* (A), *Rhizoma Gastrodiae* (B), and *Borneolum Syntheticum* (C) in Xiao'er Hulu Pulvis

醋酸溶液(38 : 62);检测波长:283 nm;柱温:室温;体积流量:1 mL/min;进样量:10 μ L。在该流动系统中,柚皮苷与其他组分均能达到基线分离,理论板数按柚皮苷峰计算大于 1 000。

3.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的柚皮苷对照品 20 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀;精密量取 3 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得(含柚皮苷 60 μ g/mL)。

3.3 空白试验:按处方取不含化橘红的其他药味,按 3.9 供试品溶液制备方法操作,进样测定,色谱图中在柚皮苷相同的位置上,无任何干扰。见图 2。

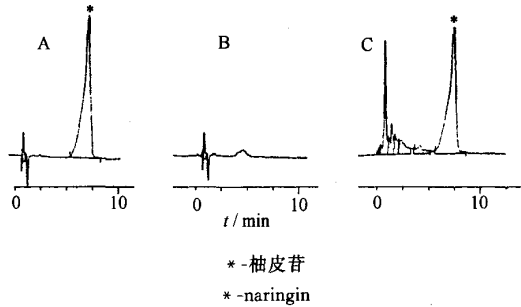


图 2 柚皮苷对照品(A)、小儿葫芦散(B)和缺化橘红阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of naringin reference substance (A), Xiao'er Hulu Pulvis (B), and negative sample without *Exocarpium Citri Grandis* (C)

3.4 线性关系考察:分别精密吸取对照品溶液 2.5、5、10、15、20 μ L,注入高效液相色谱仪中,照上述色谱条件进行测定。以柚皮苷量为横坐标,峰面积

值为纵坐标,计算得线性回归方程: $Y=1.803 \times 10^3 X-4.711$, $r=0.9999$ 。表明柚皮苷在 0.15~1.2 μ g 与峰面积值之间具有良好的线性关系。

3.5 精密度试验:分别精密吸取柚皮苷对照品溶液 10 μ L,连续重复进样 5 次,计算,峰面积值的 RSD 为 0.27%。

3.6 稳定性试验:分别精密吸取供试品溶液 10 μ L,分别于 0、3、7、75、100 h 注入色谱仪中进行测定,计算,柚皮苷峰面积值的 RSD 为 1.56%。

3.7 重现性试验:取同一批样品(020701),平行 5 份,制备供试品溶液,进样测定,根据所测得的峰面积计算质量分数,平均值为 1.45 mg/袋,RSD 为 2.65%。

3.8 加样回收率试验:取相同批号的样品(批号:020701)适量(含柚皮苷约 1.7 mg),共 5 份,精密称定后,分别精密加入约 1.7 mg 的柚皮苷对照品,照样品测定方法进行测定,计算加样回收率,结果平均值为 98.79%,RSD 为 3.48%。

3.9 样品测定:取本品内容物适量,混匀,取 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称质量,超声处理 30 min,取出,放冷,称质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得供试品溶液。照上述色谱条件测定,共测定 5 批样品,结果见表 1。

表 1 小儿葫芦散中柚皮苷测定结果

Table 1 Naringin in Xiao'er Hulu Pulvis

批 号	柚皮苷 / (mg · 袋 ⁻¹)	RSD/%
010701	1.62	0.87
011001	1.38	0.51
011002	1.20	3.54
011101	1.38	0.51
020701	1.48	0.73

4 讨论

本实验所建立的化橘红、天麻以及冰片的薄层鉴别方法,不仅对监控本品的质量具有实际意义,对其他中药制剂也具有参考价值。

柚皮苷是化橘红的特征物质,采用高效液相色谱法测定,操作简单,结果准确。采用直接超声提取制备供试品溶液,较之先用石油醚脱脂处理,再超声提取的方法,于峰面积、峰形以及保留时间均无不同。《中华人民共和国药典》2000 年版一部所载柚皮苷的流动相不适用于本品,柚皮苷与杂峰分离效果不佳。经过试验探索,采用本流动系统后,图谱效果得以改善。实验证明,超声处理 30 min,柚皮苷即可提取完全。